不同泌乳阶段奶牛血清营养状况指标与抗氧化指标的检测及其多元回归分析

秦　敏　张　辉　史彬林　郭晓宇　闫素梅*

（内蒙古农业大学动物科学学院，呼和浩特 010018）

摘　要：本试验旨在探讨不同泌乳阶段的高产与低产奶牛血清营养状况指标与抗氧化指标的变化规律，并建立血清营养状况指标与抗氧化指标的多元线性回归模型。采用 2×6（产奶量：高产≥35 kg/d 和低产＜35 kg/d；泌乳阶段：围产前期、围产后期、泌乳前期、泌乳中期、泌乳后期和干奶期）双因素完全随机试验设计，将 240 头体重[（550±10） kg]、胎次[（2.08±0.47）胎]、体况（3.0～3.5 分）、饲养管理相似的荷斯坦奶牛随机分为 12 组，每组 20 头。结果显示：高产奶牛血清β-羟丁酸（β-HB）、维生素 A（VA）含量及过氧化氢酶（CAT）活性显著高于低产奶牛（$P≤0.05$）。奶牛围产前期的血清维生素 E（VE）、锌（Zn）含量及硫氧还蛋白还原酶（TrxR）活性较低，总超氧化物歧化酶（T-SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）、CAT 活性较高；围产后期的血清葡萄糖（GLU）、VA、VE、硒（Se）含量及 T-SOD、GSH-Px 活性较低，游离脂肪酸（NEFA）、β-HB、丙二醛（MDA）含量及 CAT 活性较高；泌乳前期的血清 GLU、VA、Se、铜（Cu）含量及总抗氧化能力（T-AOC）、T-SOD、GSH-Px、CAT 活性较低，MDA 含量较高；泌乳中期的 Se 含量较低，Zn 含量较高；泌乳后期的血清 Se、Zn、MDA 含量较低，GLU 含量与 TrxR 活性较高；干奶期的血清 NEFA、Zn 含量较低，GLU 含量及 GSH-Px 活性较高。泌乳阶段与产奶量对奶牛血清 Se、Zn 含量及 T-AOC 与 GSH-Px、TrxR 活性的影响存在显著的互作效应（$P<0.05$）。多元回归分析结果表明，在围产后期和泌乳前期，血清抗氧化指标 MDA 含量与血清营养状况指标 NEFA 及β-HB 含量呈显著正相关（$P≤0.05$），与 VA、VE、Se、Zn、Cu 含量呈显著负相关（$P≤0.05$），而血清其他抗氧化指标 T-AOC 以及 T-SOD、GSH-Px 活性与上述血清营养状况指标间的多元回归关系正好与 MDA 含量相反。综上，泌乳阶段对奶牛血清营养状况指标与抗氧化指标有显著影响，在围产后期与泌乳前期，血清营养状况指标 NEFA、β-HB、VA、VE、Se、Zn、Cu 含量与抗氧化指标 T-AOC 及 T-SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量间呈显著的多元线性回归关系。

关键词：奶牛；泌乳阶段；营养状况；抗氧化；多元回归

中图分类号：S823　　　　文献标识码：A　　　　文章编号：

收稿日期：2018-01-29

基金项目：国家“十二五”农村领域国家科技计划课题（2012BAD12B09-3）

作者简介：秦　敏（1992—）女，内蒙古达拉特旗人，硕士研究生，从事反刍动物营养研究。E-mail: qinmin0828@163.com

*通信作者：闫素梅，教授，博士生导师。E-mail: yansmimau@163.com

奶牛在整个泌乳周期需经历妊娠-分娩-泌乳等一系列急剧的生理变化，尤其是泌乳高峰期的奶牛通常处于能量负平衡状态，同时高强度的代谢会使得体内自由基蓄积过多，当其超过机体的抗氧化清除能力时，便会产生氧化应激，这不仅能引起产奶量和乳品质的下降，而且增加了机体对其他疾病的易感性，对奶牛业的负面影响巨大[1-2]。因此，及时预测奶牛的氧化应激对保障奶牛健康、减少生产损失具有重要的意义。研究表明某些抗氧化指标如反映脂质过氧化水平的丙二醛（MDA）含量、反映机体清除自由基能力的总超氧化物歧化酶（T-SOD）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性等可作为评价奶牛抗氧化能力的参考指标[3]。血清营养状况指标如游离脂肪酸（NEFA）、β-羟丁酸（β-HB）、维生素 A（VA）维生素 E（VE）以及某些矿物元素含量不仅可反映奶牛的营养与健康状况，同时也是影响机体抗氧化功能的重要因素[4]。Mcart 等[5]报道，脂质动员是迄今为止过渡期奶牛健康测评中研究最广泛的生物标志物，血液中 NEFA 及β-HB 含量可预测畜群疾病或氧化应激造成机体损伤的可能性。氧化应激可引起脂肪的额外分解，使得围产期奶牛血液中 NEFA 含量处于较高的水平，从而进入脂肪和活性氧不断产生的恶性循环[6]。有研究显示，高产奶牛因血液中的活性氧含量高于中、低产奶牛，通常更易产生氧化应激，而耗氧量与氧化应激的产生密切相关[4]。Wullepit 等[7]研究发现，奶牛血清中 GSH-Px 的活性在产前 2 周显著低于产后 4 周，而 T-SOD 活性在产前 2 周显著高于产后 8 周。最近的研究表明，经产奶牛产后血清 NEFA 含量高于 0.57 mEq/L，则产奶量可降低 600 kg，降低泌乳性能的部分原因是由于血清 NEFA 含量升高所致的肝脏功能受损[6]。然而，处于不同泌乳阶段以及不同产奶性能的奶牛，关于营养状况指标与抗氧化指标的变化规律不尽相同，相关研究报道也较少，尤其是关于二者相关性研究的报道甚少。因此，本试验通过研究不同泌乳阶段奶牛血清营养状况指标与抗氧化指标的变化规律，并建立营养状况指标与抗氧化指标的多元线性回归模型，为结合营养状况指标来评价奶牛的抗氧化状况进而适时调控奶牛的营养水平、保障机体健康及提高生产性能提供参考依据。

1　材料与方法

1.1　试验奶牛与饲粮组成

试验于 2015 年 7 月选取内蒙古地区某牧场体重[（550±10） kg]、胎次[（2.08±0.47）胎]、体况（3.0～3.5 分）、饲养管理相近的荷斯坦奶牛共计 240 头，采用全混合日粮饲喂，散栏式饲养，自由采食和饮水。饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1　饲粮组成及营养水平（干物质基础）

53 Table 1 Cnmposition and nutrient levels of diets （DM basis） %

项目 Items	泌乳期 Lactating period		干奶前期	围产前期	围产后期
	高产 High yield	低产 Low yield	Dry period	Prepartum	Postpartum
原料 Ingredients					
玉米青贮 Corn silage	19.30	24.61	22.56	22.56	17.59
苜蓿 Alfalfa	14.27	4.30			20.73
燕麦草 Oat grass		8.79	28.36	28.36	2.36
羊草 Wildrye	1.82		21.76	21.76	
啤酒糟 Brewer’s grain	3.04	2.73			
玉米 Corn	14.98	14.70	9.41	9.62	12.25
压片玉米 Tablet corn	6.00	6.50			6.98
麸皮 Wheat bran	0.81	4.03	7.68	2.68	3.74
豆粕 Soybean meal	8.15	5.89	2.13	6.13	7.04
膨化大豆 Extruded soybean	0.56	0.64			
棉粕粕 Cottonseed meal	5.50	6.50	2.34	2.34	4.27
菜籽饼 Rapeseed meal	1.71	1.72	2.77	2.77	2.71
玉米蛋白粉 Corn protein meal	1.50	0.52			0.97
甜菜粕 Sugar beet meal	7.30				
全棉籽 Whole cottonseed	7.30	4.39			7.07
干酒糟及其可溶物 DDGS	1.28	1.29	1.28	1.28	2.52
过瘤胃脂肪 Rumen protected fat	0.86	0.86			
糖蜜 Molasses	1.52				
大豆皮 Soybean hull		8.79			9.42
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.50	0.15	0.11		
石粉 Limestone	0.50	0.69	0.80	0.20	0.25
小苏打 $NaHCO_3$	1.00	1.00			0.47
氧化镁 MgO	0.60	0.60			0.19
食盐 NaCl	0.50	0.50	0.30	0.30	0.44
阴离子盐 Anionic salt				1.50	
预混料 Premix[1)]	1.00	0.80	0.50	0.50	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrients levels[2)]					
泌乳净能 NE_L/（MJ/kg）[2)]	6.66	6.58	5.85	5.81	6.74
粗蛋白质 CP	18.00	15.29	10.16	10.23	18.05
中性洗涤纤维 NDF	36.46	43.17	57.68	58.05	38.96
钙 Ca	0.53	0.43	0.50	0.37	0.41
磷 P	0.40	0.36	0.45	0.17	0.36

干物质采食量 DMI/（kg/d）	26.50	21.80	16.50	14.25	19.50

1)每千克预混料含 One kg of premix contained the following:VA 500 000 IU，VD 125 000 IU，VE 1 500 IU，Zn (as zinc sulfate) 5 000 mg，Cu (as copper sulfate) 800 mg，Mn (as manganese sulfate) 3 500 mg，Fe (as ferrous sulfate) 3 000 mg，I (as potassium iodide) 20 mg，Se (as sodium selenite) 20 mg。

2) 泌乳净能为计算值，根据中国《奶牛饲养标准》（NY/T 34-2004）[8]和奶牛饲料营养成分表计算而得，其余为实测值。NE_L was a calculated value according to the Chinese *Feeding Standard of Dairy Cattle* (NY/T 34-2004) and the feed nutrient composition table of dairy cattle, and others were measured values.

1.2 试验设计

试验采用 2×6 双因素完全随机试验设计，将 240 头奶牛随机分为 12 组，每组 20 头。其中，因素一为泌乳阶段，分为围产前期（产前 21 d）、围产后期（产后 21 d）、泌乳前期（泌乳 21~50 d）、泌乳中期（泌乳 100~150 d）、泌乳后期（泌乳 200~300 d）和干奶期（产前 22~60 d）6 个阶段；因素二为产奶量，设高产（产奶量≥35 kg）和低产（产奶量<35 kg）2 种。对不同泌乳阶段奶牛血清营养状况指标与抗氧化指标进行测定。

1.3 测定指标与方法

血清 NEFA（A042）、β-HB（E030-1）含量采用比色法测定，葡萄糖（GLU，F006）含量采用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法测定，试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。血清 VA、VE 含量采用荧光比色法测定，仪器为日立 F-7000 型荧光分光光度计。血清硒（Se）、锌（Zn）、铜（Cu）含量采用电感耦合等离子体-发射光谱法测定，仪器为 ICAP 6300Duo（美国 Thermofisher 公司）。

血清 MDA（A003-1）含量采用硫代巴比妥酸法测定，总抗氧化能力（T-AOC，A015）采用比色法测定，T-SOD（A001-1）活性采用黄嘌呤氧化酶法测定，GSH-Px（A005）活性采用二硫代二硝基苯甲酸法测定，过氧化氢酶（CAT，A007-1）活性采用可见光法测定，硫氧还蛋白还原酶（TrxR，A119）活性采用分光光度法测定，试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供，测定流程按照试剂盒说明书进行。

1.4 数据处理

试验数据采用 SAS 9.0 软件的 ANOVA 统计程序进行双因素方差分析，并采用 Duncan 氏法进行组间多重比较，分析主效应（泌乳阶段与产奶量）以及二者的互作效应，$P\leq0.05$ 表示组间差异显著，$0.05<P\leq0.10$ 表示组间差异趋于显著。采用多元线性回归统计程序中的“逐步回归法”进行分析，$P\leq0.05$ 表示回归方程与自变量的偏回归系数均达显著水平，$0.05<P\leq0.10$ 表示回归方程与自变量的偏

回归系数趋于显著。

2　结　果

2.1　泌乳阶段与产奶量对血清营养状况指标的影响

由表 2 可知，高产奶牛血清β-HB 酸与 VA 含量显著高于低产奶牛（P≤0.05）。血清 NEFA 含量以围产后期最高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），干奶期最低，显著低于其他各阶段（P≤0.05）；β-羟丁酸含量也以围产后期最高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），其他各阶段均无显著差异（P>0.05）；GLU 含量以泌乳后期和干奶期较高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），围产期及泌乳前期含量较低，尤以围产后期最低。从围产前期到干奶期，血清 NEFA 及β-HB 含量呈现先上升后下降的趋势，而 GLU 含量的变化趋势与之相反。血清 VA 含量以干奶期最高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），以围产后期、泌乳前期和泌乳中期含量较低，且三者间无显著差异（P>0.05）；血清 VE 含量以泌乳前期和泌乳中期较高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），以围产前期和围产后期较低，显著低于其他各阶段（P≤0.05）。从围产前期到干奶期，血清 VA 含量呈现先下降后上升的趋势，而血清 VE 含量的变化规律与之相反。血清 Se 含量以围产前期最高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），泌乳后期最低，显著低于其他各阶段（P≤0.05）；血清 Zn 含量以泌乳中期最高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），以围产前期、泌乳后期和干奶期较低，显著低于其他各阶段（P≤0.05）；血清 Cu 含量以围产前期、围产后期和干奶期较高，尤以干奶期最高，显著高于泌乳前期、泌乳中期和泌乳后期（P≤0.05）。从围产前期到干奶期，血清 Se 与 Cu 含量呈现先下降后上升的趋势，而血清 Zn 含量呈现与之相反的变化趋势。泌乳阶段和产奶量对奶牛血清 Se 与 Zn 含量的影响存在显著的互作效应（P<0.05）。

表 2　不同泌乳阶段血清营养状况指标的变化规律

Table 2　Variations of serum nutritional status indexes at different lactation stages

项目 Items		游离脂肪酸 NEFA (μmol/L)	β-羟丁酸 β-HB/(mmol/L)	葡萄糖 GLU/（mmol/L）	维生素 A VA/ (μg/mL)	维生素 E VE /(μg/mL)	硒 Se /(μg/mL)	锌 Zn /(μg/mL)	铜 Cu /(μg/mL)
泌乳阶段 Lactation stage	围产前期 Prepartum	303.8^{cd}	0.628^{b}	2.328^{bc}	0.262^{b}	3.657^{d}	0.135^{a}	1.224^{c}	0.576^{ab}
	围产后期 Postpartum	571.9^{a}	1.145^{a}	2.009^{c}	0.211^{c}	3.996^{d}	0.056^{b}	3.096^{b}	0.558^{ab}
	泌乳前期 Early-lactatio	413.6^{b}	0.668^{b}	2.129^{c}	0.215^{c}	8.013^{a}	0.047^{b}	3.205^{b}	0.465^{c}

	n period								
	泌乳中期 Mid-lactation period	411.6^{b}	0.679^{b}	2.528^{b}	0.243^{bc}	8.615^{a}	0.048^{b}	3.676^{a}	0.523^{bc}
	泌乳后期 Late-lactation period	365.0^{bc}	0.598^{b}	3.400^{a}	0.271^{b}	6.991^{b}	0.023^{c}	1.460^{c}	0.526^{bc}
	干奶期 Dry period	292.7^{d}	0.578^{b}	3.185^{a}	0.326^{a}	5.443^{c}	0.064^{b}	1.481^{c}	0.603^{a}
产奶量 Milk yield	低产 Low yield	383.4^{a}	0.664^{b}	2.603^{a}	0.246^{b}	5.665^{a}	0.059^{a}	2.507^{a}	0.528^{a}
	高产 High yield	403.4^{a}	0.799^{a}	2.607^{a}	0.265^{a}	6.111^{a}	0.065^{a}	2.260^{a}	0.555^{a}
SEM		32.475	0.092	0.156	0.014	0.378	0.017	0.222	0.034
P 值 *P*-value	泌乳阶段 Lactation stage	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002
	产奶量 Milk yield	0.503	0.015	0.726	0.014	0.600	0.372	0.127	0.164
	泌乳阶段×产奶量 Lactation stage×milk yield	0.256	0.141	0.158	0.778	0.931	<0.001	<0.001	0.608

同列数据肩标不含相同字母表示主效应差异显著（P<0.05），SEM 表示平均值的标准误。下表同。

Values in the same column without same superscript letters mean main effect significant difference (P<0.05). SEM mean the standard error of the mean. The same as below.

2.2 泌乳阶段与产奶量对血清抗氧化指标的影响

由表 3 可知，高产奶牛血清 CAT 活性显著高于低产奶牛（P≤0.05）。血清 MDA 含量以围产后期和泌乳前期较高，显著高于围产前期和泌乳后期（P≤0.05）；血清 T-AOC 以围产前期、围产后期及泌乳中期、泌乳后期较高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），而泌乳前期最低，显著低于其他各阶段（P≤0.05）；血清 T-SOD 活性以围产前期最高，显著高于其他各阶段（P≤0.05），以围产后期、泌乳前期和泌乳后期较低；血清 GSH-Px 活性以围产前期和干奶期较高，显著高于其他各阶段（P≤0.05）；血清 CAT 活性以围产前期和围产后期较高，显著高于其他各阶段（P≤0.05）；血清 TrxR

活性以泌乳后期最高，显著高于其他各阶段（*P*≤0.05），以围产前期最低，显著低于其他各阶段（*P*≤0.05）。泌乳阶段与产奶量对奶牛血清 T-AOC、GSH-Px 及 TrxR 活性存在显著的互作效应（*P*<0.05）。

表 3　不同泌乳阶段血清抗氧化指标的变化规律

Table 3　Variations of serum antioxidant indexes at different lactation stages

项目 Items		丙二醛 MDA/（nmol/mL）	总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL)	总超氧化物歧化酶 T-SOD (U/mL)	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mL)	过氧化氢酶 CAT/(U/mL)	硫氧还蛋白还原酶 TrxR/(U/mg prot)
泌乳阶段 Lactation stages	围产前期 Prepartum	1.707^{cd}	3.862^{a}	134.610^{a}	152.400^{a}	3.905^{a}	7.410^{d}
	围产后期 Postpartum	2.203^{ab}	3.641^{a}	115.730^{d}	119.300^{b}	3.600^{a}	15.350^{c}
	泌乳前期 Early-lactation period	2.345^{a}	2.553^{c}	114.280^{d}	119.410^{b}	2.175^{c}	17.360^{bc}
	泌乳中期 Mid-lactation period	1.931^{bc}	3.56^{a}	124.870^{b}	127.010^{b}	2.541^{bc}	16.160^{c}
	泌乳后期 Late-lactation period	1.407^{d}	3.851^{a}	117.520^{cd}	124.750^{b}	2.868^{b}	25.520^{a}
	干奶期 Dry period	1.909^{bc}	3.150^{b}	123.200^{bc}	166.320^{a}	2.528^{bc}	20.480^{b}
产奶量 Milk yield	低产 Low yield	1.904^{a}	3.529^{a}	121.720^{a}	128.380^{a}	2.722^{b}	17.190^{a}
	高产 High yield	1.922^{a}	3.314^{a}	120.940^{a}	140.340^{a}	3.121^{a}	17.740^{a}
SEM		0.181	0.189	3.031	10.380	0.249	1.571
P 值 *P*-value	泌乳阶段 Lactation stage	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	产奶量 Milk yield	0.926	0.053	0.672	0.091	0.010	0.412
	泌乳阶段×产奶量 Lactation stage×milk yield	0.080	<0.001	0.103	0.003	0.084	<0.001

2.3　血清营养状况指标与抗氧化指标的多元线性回归分析

2.3.1 血清营养状况指标（X_i）与抗氧化指标（Y）的多元回归方程

在每一泌乳阶段，以 NEFA（X_1）、β-HB（X_2）、VA（X_3）、VE（X_4）、Se（X_5）、Zn（X_6）、Cu（X_7）等营养状况指标（X_i）为自变量，抗氧化指标（Y）为因变量，建立营养状况指标与每一种抗氧化指标的多元回归方程。

由表 4 可知，在围产后期和泌乳前期，血清 MDA 含量（Y_1）与营养状况指标建立的多元回归模型达显著水平（P=0.001，P=0.001），且围产后期自变量 X_5 的偏回归系数达显著水平（P=0.017）；血清 T-SOD 活性（Y_3）与营养状况指标建立的多元回归模型达显著水平（P=0.022，P=0.007），但各自变量的偏回归系数均未达显著水平（P>0.05）；血清 GSH-Px 活性（Y_4）与营养状况指标建立的多元回归模型达显著水平（P=0.001，P=0.006），且围产后期自变量 X_1、X_4、X_5 及 X_7 的偏回归系数达显著水平（P=0.022，P=0.046，P=0.010，P=0.001），泌乳前期自变量 X_4 与 X_5 的偏回归系数达显著水平（P=0.010，P=0.015）。在泌乳前期和泌乳后期，血清 T-AOC（Y_2）与营养状况指标建立的多元回归模型达显著水平（P=0.040，P=0.020），但各自变量的偏回归系数均未达显著水平（P>0.05）。此外，血清 CAT、TrxR 活性分别与奶牛各阶段营养状况指标建立的回归方程均不显著（P>0.05）。

表 4 血清营养状况指标与抗氧化指标的多元回归显著性检验

Table 4 Significance test of multivariate regression on serum nutritional status indexes and antioxidant indexes

项目 Items		偏回归系数的 P 值 P-value of partial regression coefficient							R^2	模型 P 值 Model P-value
		游离脂肪酸 NEFA（X_1）	β-羟丁酸 β-HB（X_2）	维生素 A VA（X_3）	维生素 E VE（X_4）	硒 Se（X_5）	锌 Zn（X_6）	铜 Cu（X_7）		
丙二醛 MDA（Y_1）	围产前期 Prepartum	0.386	0.591	0.378	0.672	0.357	0.720	0.123	0.32	0.556
	围产后期 Postpartum	0.184	0.196	0.416	0.223	0.017	0.756	0.954	0.57	0.001
	泌乳前期 Early-lactation period	0.149	0.582	0.174	0.727	0.717	0.224	0.806	0.61	0.001
	泌乳中期 Mid-lactat	0.568	0.678	0.304	0.801	0.782	0.309	0.453	0.29	0.843

	ion period									
	泌乳后期 Late-lactation period	0.614	0.519	0.416	0.697	0.983	0.434	0.259	0.48	0.706
	干奶期 Dry period	0.133	0.423	0.867	0.462	0.677	0.795	0.885	0.43	0.120
总抗氧化能力 T-AOC（Y_2）	围产前期 Prepartum	0.448	0.655	0.423	0.235	0.653	0.676	0.516	0.20	0.810
	围产后期 Postpartum	0.564	0.672	0.465	0.378	0.692	0.344	0.676	0.26	0.843
	泌乳前期 Early-lactation period	0.635	0.214	0.228	0.487	0.941	0.811	0.559	0.65	0.040
	泌乳中期 Mid-lactation period	0.420	0.640	0.436	0.311	0.455	0.539	0.835	0.56	0.565
	泌乳后期 Late-lactation period	0.438	0.126	0.214	0.160	0.981	0.382	0.142	0.77	0.020
	干奶期 Dry period	0.501	0.877	0.462	0.083	0.079	0.855	0.663	0.31	0.456
总超氧化物歧化酶 T-SOD（Y_3）	围产前期 Prepartum	0.099	0.811	0.256	0.246	0.709	0.175	0.265	0.44	0.357
	围产后期 Postpartum	0.463	0.081	0.939	0.848	0.443	0.055	0.304	0.55	0.022
	泌乳前期 Early-lactation period	0.829	0.293	0.336	0.578	0.781	0.617	0.228	0.55	0.007
	泌乳中期 Mid-lactation period	0.788	0.158	0.136	0.153	0.156	0.205	0.878	0.48	0.156
	泌乳后期	0.793	0.626	0.891	0.534	0.549	0.866	0.218	0.51	0.484

	泌乳后期 Late-lactation period									
	干奶期 Dry period	0.137	0.161	0.395	0.615	0.803	0.198	0.721	0.56	0.141
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px（Y_4）	围产前期 Prepartum	0.138	0.327	0.673	0.811	0.262	0.273	0.219	0.42	0.356
	围产后期 Postpartum	0.022	0.560	0.662	0.046	0.010	0.391	0.001	0.78	0.001
	泌乳前期 Early-lactation period	0.226	0.160	0.068	0.010	0.015	0.473	0.161	0.74	0.006
	泌乳中期 Mid-lactation period	0.089	0.873	0.614	0.263	0.307	0.124	0.324	0.67	0.127
	泌乳后期 Late-lactation period	0.153	0.766	0.214	0.156	0.186	0.633	0.459	0.71	0.119
	干奶期 Dry period	0.094	0.623	0.827	0.742	0.352	0.571	0.757	0.33	0.642

CAT、TrxR 活性分别与营养状况指标建立的回归关系均不显著（P>0.05），故结果不在表中显示。

There were no significant multiple regression relationships between the activities of CAT or TrxR with the nutritional status indexes (P>0.05), so the results were not shown in the table.

Y_1、Y_2、Y_3、Y_4 的计量单位分别为 nmol/mL、U/mL、U/mL、U/mL，X_1、X_2、X_3、X_4、X_5、X_6、X_7 的计量单位分别为μmol/L、mmol/L、μg/mL、μg/mL、μg/mL、μg/mL、μg/mL。下表同。

The units of Y_1, Y_2, Y_3 and Y_4 were nmol/mL, U/mL, U/mL and U/mL, respectively; the units of X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6 and X_7 are μmol/L, mmol/L, μg/mL, μg/mL, μg/mL, μg/mL and μg/mL, respectively. The same as below.

2.3.2 血清营养状况指标（X_i）与抗氧化指标（Y）的最优回归方程

对于多元回归模型已达显著水平而偏回归系数未达显著水平的某些自变量，按照逐步回归法，即误差概率由大到小的原则逐一剔除，直至回归方程和各自变量的偏回归系数均达显著水平，最终建立不同泌乳阶段奶牛营养状况（X_i）与某一抗氧化指标（Y）的最优回归方程，此时，回归方程及

各自变量的偏回归系数均达显著水平（$P \leqslant 0.05$）（表 5）。

表 5　血清营养状况指标与抗氧化指标的最优回归方程显著性检验

Table 5　Significance test of optimal regression equation on serum nutritional status indexes and antioxidant indexes

项目 Items		偏回归系数的 P 值 P-value of Partial regression coefficient							R^2	模型 P 值 Model P-value
		游离脂肪酸 NEFA（X_1）	β-羟丁酸 β-HB（X_2）	维生素 A VA（X_3）	维生素 E VE（X_4）	硒 Se（X_5）	锌 Zn（X_6）	铜 Cu（X_7）		
丙二醛 MDA（Y_1）	围产后期 Postpartum	0.021	0.040	—	—	0.023	—	—	0.54	0.001
	泌乳前期 Early-lactation period	0.005	—	0.017	—	—	—	—	0.78	0.001
总抗氧化能力 T-AOC（Y_2）	泌乳前期 Early-lactation period	—	0.005	0.041	—	—	—	—	0.53	0.001
	泌乳后期 Late-lactation period	—	0.029	—	0.038	—	—	0.042	0.54	0.005
总超氧化物歧化酶 T-SOD（Y_3）	围产后期 Postpartum	—	0.007	—	—	—	0.025	—	0.47	0.001
	泌乳前期 Early-lactation period	—	0.005	—	—	—	—	0.010	0.57	0.001
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px（Y_4）	围产后期 Postpartum	0.001	—	—	0.047	0.008	—	0.010	0.76	0.001
	泌乳前期 Early-lactation period	—	—	0.042	0.010	0.006	—	—	0.74	0.004

由表 5 可知，在围产后期，血清 MDA 含量（Y_1）与 NEFA（X_1）、β-HB（X_2）及 Se 含量（X_5）

建立的最优回归方程为：Y_1=1.331+0.002X_1+0.342X_2-7.323X_5（R^2=0.54，P=0.001）；在泌乳前期，血清 MDA 含量（Y_1）与 NEFA（X_1）和 VA 含量（X_3）建立的最优回归方程为：Y_1=1.932+0.003X_1-4.458X_3（R^2=0.78，P=0.001）。在泌乳前期，血清 T-AOC（Y_2）与β-HB（X_2）和 VA 含量（X_3）建立的最优回归方程为：Y_2=3.526-2.156X_2+0.637X_3（R^2=0.53，P=0.001）；在泌乳后期，血清 T-AOC（Y_2）与β-HB（X_2）、VE（X_4）及 Cu 含量（X_7）建立的最优回归方程为：Y_2=2.267-3.357X_2+0.29X_4+1.98X_7（R^2=0.54，P=0.005）。在围产后期，血清 T-SOD 活性（Y_3）与β-HB（X_2）和 Zn 含量（X_6）建立的最优回归方程为：Y_3=118.442-12.07X_2+4.198X_6（R^2=0.47，P=0.001）；在泌乳前期，血清 T-SOD 活性（Y_3）与β-HB（X_2）和 Cu 含量（X_7）建立的最优回归方程为：Y_3=112.864-21.296X_2+28.189X_7（R^2=0.57，P=0.001）。在围产后期，血清 GSH-Px 活性（Y_4）与 NEFA（X_1）、VE（X_4）、Se（X_5）及 Cu 含量（X_7）建立的最优回归方程为：Y_4=105.239-0.167X_1+8.034X_4+396.16X_5+87.83X_7（R^2=0.76，P=0.001）；在泌乳前期，血清 GSH-Px 活性（Y_4）与 VA（X_3）、VE（X_4）及 Se 含量（X_5）建立的最优回归方程为：Y_4=140.819+114.68X_3+10.08X_4+826.24X_5（R^2=0.74，P=0.004）。

3 讨 论

奶牛由于高强度代谢很容易产生氧化应激，Castillo 等[3]发现营养负平衡是引起氧化应激的主要因素之一，同时与泌乳阶段和产奶量有关。围产期和泌乳早期的奶牛由于营养负平衡和脂质动员，能量代谢加快，从而导致更多自由基的产生，容易发生氧化应激，同时由于妊娠-分娩-泌乳等一系列急剧的生理变化和产后瘫痪、胎衣不下、酮病等疾病，使得机体抗氧化能力减弱，尤其是高产奶牛，通常更易产生氧化应激[4]。哺乳动物体内有两大抗氧化防御体系可用来清除体内过量的自由基，酶促体系和非酶促体系。酶促体系中的抗氧化酶主要包括 T-SOD、GSH-Px、CAT 和 TrxR 等；非酶促体系中的抗氧化剂主要指 VE、VC 以及微量元素 Se、Zn 和 Cu 等营养指标，这两大抗氧化防御体系之间通过相互合作与依赖来维持机体内环境的相对稳定[9]，这提示营养状况指标与抗氧化指标之间存在一定相关性。MDA 是脂质过氧化物代谢的主要产物，可作为氧化应激的一种生物标志物[3]。研究也指出，脂质动员是迄今为止过渡期奶牛健康测评中研究最广泛的生物标志物，血清 NEFA 与β-HB 含量反映了机体脂肪组织的动员情况，可作为奶牛酮病的检测指标，目前已有很多数据支持根据血液中 NEFA 及β-HB 含量来预测畜群疾病或氧化应激造成机体损伤的可能性[4]。GLU 作为体内的主要供能物质，其含量高低直接影响脂肪的分解状态，与疾病的发生密切相关。章安源等[10]研究报道，奶牛酮病的诊断标准为：β-HB 含量>1.2 mmol/L、NEFA 含量>0.4 mmol/L、GLU 含量<3.0 mmol/L。

本试验中，围产后期的血清β-HB 与 NEFA 含量均显著上升，高于或接近这一水平，尤其是高产牛，而血清 GLU 含量表现为下降趋势，提示奶牛群体存在酮病的风险，尤以围产后期较严重。同时，本试验所测抗氧化指标的结果显示，血清 MDA 含量在围产后期显著升高，而 T-SOD 和 GSH-Px 活性显著降低，T-AOC 和 CAT 活性也表现为不同程度的下降，说明围产后期机体的抗氧化功能较弱；多元回归结果表明，在围产后期血清 NEFA、β-HB 含量与 MDA 含量呈显著正相关，与 T-SOD 和 GSH-Px 活性呈显著负相关，进一步验证了血液中的 NEFA 与β-HB 含量可反映机体的氧化应激状态。Mcart 等[5]的研究指出奶牛产后能量需求急剧增加，血液中 GLU 含量降低可刺激脂肪组织的分解，产生的 NEFA、β-HB 增多，引发酮病的形成，而脂肪在肝脏的蓄积，又进一步抑制了 GLU 的合成，加剧了能量负平衡状态，使得机体氧化应激严重，抗氧化能力下降。

VA 与 VE 广泛分布于机体各组织器官的生物膜上，对奶牛的抗氧化功能有显著的调节作用。Jin 等[11]在泌乳期奶牛饲粮中分别添加 110 和 220 IU/kg BW 的 VA，结果显示高剂量 VA 组奶牛抗氧化水平显著提升。据报道，奶牛血浆中 VA 含量低于 0.2 μg/mL 即可确诊为 VA 缺乏，血清 VE 含量低于 2 μg/mL 在牛和羊被认为是临界值，可能发生缺乏症[12]。本试验中，围产后期奶牛血清 VA、VE 含量及泌乳前期的血清 VA 含量显著降低，且 VA 含量接近临界缺乏阈值，结合抗氧化指标结果，抗氧化酶 T-SOD、GSH-Px 与 TrxR 的活性在围产后期与泌乳前期较低，而 MDA 含量较高，由此说明围产后期与泌乳前期机体抗氧化能力较弱与其 VA、VE 营养状况有关。本试验的多元回归结果显示，血清 VA 含量在泌乳前期与 T-AOC 及 GSH-Px 活性呈显著正相关关系，与 MDA 含量呈显著负相关关系，进一步说明血清 VA 含量可在一定程度上反映机体抗氧化能力，提高血清 VA 含量可提高其抗氧化能力。

许多酶的辅助因子和活性中心由金属离子组成，如哺乳动物体内的铜/锌-超氧化物歧化酶（Cu/Zn-SOD）抗氧化酶系统是由微量元素 Cu 和 Zn 组成，能够减少自由基的产生，有助于奶牛抵抗在生产过程中的应激反应。微量元素 Se 是 GSH-Px 的主要组成部分，其生物活性主要是依赖 GSH-Px 来实现的，通过消除过多的自由基，抑制机体脂质过氧化，从而保护生物体的细胞膜结构来发挥其抗氧化作用。Se 的抗氧化功能还体现在它和 VE 的协同作用上[13]，Se 对围产期的奶牛具有抵抗氧化应激及调节机体免疫的作用[14]。本试验中，血清 GSH-Px 活性与 VE 及 Se 含量呈显著正相关关系，但其抗氧化作用的表达是各自独立发挥还是相互协作实现的有待进一步研究。结合多元回归方程的结果，血清 Se 含量在围产后期与 MDA 含量呈显著负相关，与 GSH-Px 活性呈显著正相关，

血清 Zn 含量与在围产后期与 T-SOD 活性呈显著正相关，进一步说明了血清 Se、Zn、Cu 含量与围产期的奶牛抗氧化功能密切相关。有资料报道，正常牛血清 Se 含量在 0.08～0.30 μg/mL，临界范围为 0.03～0.07 μg/mL，0.020～0.025 μg/mL 为 Se 缺乏[12]。本试验结果显示 Se 在泌乳后期缺乏，且除围产前期外的其他各阶段均接近其缺乏的阈值。正常奶牛血清 Cu 含量为 0.5～1.2 μg/mL，Zn 含量为 0.8～1.2 μg/mL[12]。Underwood 等[15]报道奶牛血清 Zn 的正常含量为 0.7～1.3 μg/mL，本试验中奶牛血清 Cu 含量在泌乳前期低于正常值，但血清 Zn 含量均在正常范围内。因此，在实际生产中应根据不同泌乳阶段针对性地调整奶牛饲粮中这些元素的供给。

本文探讨了不同泌乳阶段的高、低产奶牛血清营养状况指标与抗氧化指标的变化规律，并建立了这些指标的多元线性回归模型，为结合血清营养状况指标的变化预测其抗氧化能力，进而为科学预防奶牛不同时期氧化应激的发生、适时调整饲粮营养、保障机体健康和提高生产性能提供了参考依据。综合这些研究结果得出，营养状况指标血清 NEFA、β-HB、VA、VE、Zn、Cu 与 Se 含量均与奶牛的抗氧化指标存在一定相关，但主要集中在围产后期和泌乳前期，其他泌乳阶段的相关性较小，目前相关的研究报道甚少，而且数据有限，因此，确切研究还需要进一步探讨。

4 结 论

① 泌乳阶段对奶牛血清营养状况指标 NEFA、β-HB、GLU、VA、VE、Se、Zn、Cu 含量及抗氧化指标 T-AOC，T-SOD、GSH-Px、CAT、TrxR 活性和 MDA 含量有显著影响。

② 在围产后期和泌乳前期，血清抗氧化指标 MDA 含量与营养状况指标 NEFA 及β-HB 含量呈显著正相关关系，与 VA、VE、Se、Zn、Cu 含量呈显著负相关关系，而血清其他抗氧化指标 T-AOC、T-SOD 及 GSH-Px 活性与上述营养状况指标间的多元回归关系正好与 MDA 含量相反。

参考文献：

[1] 王建国.围产期健康奶牛与酮病、亚临床低钙血症病牛血液代谢谱的比较与分析[D].博士学位论文.长春:吉林大学,2013.

[2] 黄华波,禹善秋.奶牛氧化应激与抗氧化的研究进展[J].中国奶牛,2015,(22):18–19.

[3] CASTILLO C,HERNANDEZ J,BRAVO A,et al.Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows[J].The Veterinary Journal,2005,169(2):286–292.

[4] BERNABUCCI U,RONCHI B,LACETERA N,et al.Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows[J].Journal of

Dairy Science,2005,88(6):2017–2026.

[5] MCART J A A,NYDAM D V,OETZEL G R,et al.Elevated non-esterified fatty acids and β-hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance[J].The Veterinary Journal,2013,198(3):560–570.

[6] SORDILLO L M,RAPHAEL W.Significance of metabolic stress,lipid mobilization,and inflammation on transition cow disorders[J].Veterinary Clinics of North America:Food Animal Practice,2013,29(2):267–278.

[7] WULLEPIT N,RAES K,BEERDA B,et al.Influence of management and genetic merit for milk yield on the oxidative status of plasma in heifers[J].Livestock Science,2009,123(2/3):276–282.

[8] 中华人民共和国农业部.NY/T 34–2004 奶牛饲养标准[S].北京:中国标准出版社,2004.

[9] IL'INA T N,ILYUKHA V A,BAISHNIKOVA I V,et al.Antioxidant defense system in tissues of semiaquatic mammals[J].Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology,2017,53(4):282–288.

[10] 章安源,李淑花,张志民,等.奶牛酮病治疗及酮体与抗氧化指标的相关性研究[J].湖北畜牧兽医,2015,36(8):6–7.

[11] JIN L,YAN S M,SHI B L,et al.Effects of vitamin A on the milk performance,antioxidant functions and immune functions of dairy cows[J].Animal Feed Science and Technology,2014,192:15–23.

[12] 刘宗平.现代动物营养代谢病学[M].北京:化学工业出版社,2003.

[13] AITKEN S L,KARCHER E L,REZAMAND P,et al.Evaluation of antioxidant and proinflammatory gene expression in bovine mammary tissue during the periparturient period[J].Journal of Dairy Science,2009,92(2):589–598.

[14] SORDILLO L,CORL C,GANDY J.Selenoproteins regulate oxidative stress and inflammatory phenotype of endothelial cells[J].Journal of Immunology,2013,190(1):5132–5133.

[15] UNDERWOOD E J,SUTTLE N F.The Mineral Nutrition of Livestock[M].3rd ed.New York:CABI Publishing,2001.

Multiple Regression Analysis on Serum Nutritional Status Indexes and Antioxidant Indexes in Different Lactation Stages of Dairy Cows

QIN Min ZHANG Hui SHI Binlin GUO Xiaoyu YAN Sumei*

*Corresponding author, professor, E-mail: yansmimau@163.com (责任编辑 菅景颖)

(*College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot* 010018)

Abstract: This experiment was aimed to investigate the variations of serum nutritional status indexes and antioxidant indexes in different lactation stages of dairy cows, and a multiple linear regression model on the nutritional status indexes and antioxidant indexes was established. The experiments were conducted as a 2×6 (milk yield: high yield, ≥35 kg/d or low yield, <35 kg/d; lactation stage: prepartum, postpartum, early-lactation period, mid-lactation period, late-lactation period and dry period) double-factor completely randomized experiment design. A total of 240 Holstein cows with similar body weight [(550 ± 10) kg], parity [(2.08±0.47) parities], body condition (3.0 to 3.5 points) were randomly divided into 12 groups with 20 cows per group. The results showed that the serum β-hydroxybutyric acid (β-HB), vitamin A (VA) contents and catalase (CAT) activity of high-yield dairy cows were significantly higher than those of low-yield dairy cows ($P \leqslant 0.05$). The serum vitamin E (VE), zinc (Zn) contents and thioredoxin reductase (TrxR) activity in prepartum of dairy cows were lower, while the total superoxide dismutase (T-SOD), glutathion peroxidase (GSH-Px) and CAT activities were higher. The serum glucose (GLU), VA, VE, selenium (Se) contents and T-SOD, GSH-Px activities in postpartum were lower, while the non-esterified fatty acids (NEFA), β-HB, malondialdehyde (MDA) contents and CAT activity were higher. The serum GLU, VA, Se, copper (Cu) contents, total antioxidant capacity (T-AOC), and T-SOD, GSH-Px, CAT activities were lower in early-lactation period, while the MDA content was higher. The serum Se content was lower in mid-lactation period, while the Zn content was higher. The Se, Zn and MDA contents in late-lactation period were lower, while the GLU content and TrxR activity were higher. The NEFA and Zn contents in dry period were lower, while the GLU content and GSH-Px activity were higher. The lactation stage and milk yield had significantly interaction effects on the serum Se, Zn contents, T-AOC, GSH-Px and TrxR activities of dairy cows ($P \leqslant 0.05$). The results of multiple regression analysis showed that serum antioxidant index such as MDA content had a significantly positive correlation with serum nutritional status indexes such as NEFA and β-HB contents ($P \leqslant 0.05$), and had a significantly negative correlation with VA, VE, Se, Zn and Cu contents in the postpartum and early-lactation period ($P \leqslant 0.05$). However, the multiple regression relationships between serum antioxidant indexes such as T-AOC, T-SOD and GSH-Px activities with the above nutritional status indexes showed the opposite results to MDA content ($P \leqslant 0.05$). In

summary, the serum nutritional status indexes and antioxidant indexes of dairy cows are significantly affected by the lactation stage, and there are significant multivariate regression relationships between the serum nutritional status indexes such as NEFA, β-HB, VA, VE, Se, Zn Cu contents and the antioxidant indexes such as T-AOC, T-SOD and GSH-Px activities, and MDA content.

Key words: dairy cows; lactation stage; nutritional status; antioxidant; multiple regression